



# Effect of Hyaluronic Acid on reconstruction of deficient interdental papillae: in vitro and in vivo

著者	章 一帆
号	53
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	歯博第912号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/00130103">http://hdl.handle.net/10097/00130103</a>

氏 名（本籍）	： <sup>じ や ん いーふあん</sup> ZHANG YIFAN（中国）
学 位 の 種 類	： 博 士 （ 歯 学 ）
学 位 記 番 号	： 歯 博 第 9 1 2 号
学位授与年月日	： 令和2年9月25日
学位授与の要件	： 学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	： 東北大学大学院歯学研究科（博士課程）歯科学専攻
学位論文題目	： Effect of Hyaluronic Acid on reconstruction of deficient interdental papillae: in vitro and in vivo （欠損歯間乳頭の再建に及ぼすヒアルロン酸の影響：in vitro および in vivo 的検討）
論文審査委員	： （主査）教授 洪 光 教授 佐々木 啓 一 教授 江 草 宏

## 論文内容要旨

[Background] Deficiency of the interdental papillae is a challenge from the esthetic perspective. Hyaluronic acid (HA) filler is a soft tissue filler that is widely used in facial filling and can be employed to reconstruct deficient interdental papillae. Recently, an increasing number of case reports have described this method as minimally invasive and predictable. However, there have been few studies on the absorption of HA filler and the effect of HA on gingival cells. The purpose of this study was to observe the long-term behavior of HA filler and the effect of HA on human gingival fibroblasts (HGFs).

[Methods] Fifteen Sprague-Dawley (SD) rats were used to test the long-term behavior of HA filler *in vivo*. Hematoxylin eosin (HE) staining was used to observe the HA filler in gingival tissue. HA was diluted to 5% and 10% concentration to culture human gingival fibroblast (HGF) *in vitro* test, compared to the control group in basal culture. The morphology and proliferation of HGF were testified by scanning electron microscope and metabolic activity cell counting kit. Furthermore, the effect of HA on target gene and protein expression associated with gingival regeneration, including vascular endothelial growth factor (VEGF), collagen1 (COL1A2), bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), wnt1-inducible signaling pathway protein-1 (WISP-1/CCN4), was assessed by reverse transcription polymerase chain reaction (real-time PCR), and western blotting.

[Results] The degradation of HA filler in gingival tissue has individual difference. After 6 months, HA were absorbed except one rat. And HA did not affect the morphology and proliferation of HGF. 5% HA promoted VEGF, COL1A2, BMP-2, WISP-1/CCN4 genes expression at 7 days compared with control group and 10% HA. 5% HA also promoted CollA2 protein expression at 3 days,

promoted BMP-2 protein expression at 7 and 14 days, WISP-1/CCN4 protein expression at 14 days. Whereas VEGF protein expression was promoted by 10% at 3 days. Conclusions: HA filler long term existence did no harm to gingival tissue. The absorption of HA filler has individual difference.

[Conclusion] Although HA showed no positive effects on cell proliferation, it had a positive influence on gingival tissue repair by enhancing related gene and protein expression. More in vitro studies are necessary to further investigate the effect of HA on regeneration of the interdental papillae.

Keywords: Hyaluronic acid, Interdental papilla, Biomaterial.

## 審査結果要旨

審美領域とされる前歯部における歯間乳頭の欠損は、ブラックトライアングルとも呼ばれ、審美的な問題を呈する。臼歯部では歯間乳頭欠損により、食物の嵌入など機能的障害を引き起こす。この欠損した歯間乳頭の再建を目指し、近年、低侵襲で予測可能な方法が多く検討されている。ヒアルロン酸（HA）フィラーは、顔の美容整形術においては既に広く使用されており、低侵襲であることから、歯間乳頭の再建にも使用可能と考えられる。しかし、HAフィラーを歯肉に応用した際の吸収性や安定性、歯肉細胞への影響に関しては未だ不明であり、実用化には至っていない。

本論文はHAフィラーの歯肉組織中における吸収性、および歯肉線維芽細胞(HGF)に対する影響について検討したものである。動物実験では15匹のSprague-Dawley (SD)ラットを用いて、対照群、擬似対照群、実験群の3群に分け、ヘマトキシリンネオシン(HE)染色により6ヶ月後のHA吸収性について解析した。細胞実験では、ヒト歯肉線維芽細胞（HGF-1）を用いて、対照群、5%HA群、10%HA群におけるHGF形態と増殖についてSEMおよびCCK-8により解析した。さらに、血管内皮増殖因子（VEGF）、タイプIコラーゲン（COL1A2）、骨形態形成タンパク質2（BMP-2）などを含む歯肉再生に関連する遺伝子および蛋白質に発現について、リアルタイムPCR、ウェスタンブロット法により評価した。

歯肉組織中におけるHAの吸収挙動は個体差が認められ、1匹のラットを除いて、HAは吸収されていた。細胞実験では、HAはHGFの形態や増殖には影響を及ぼさなかった。歯肉再生関連因子において、5%HAグループは培養3日後にはCOL1A2の発現を、7日後はVEGF, COL1A2, BMP-2, WISP-1/CCN4の発現を、14日後にはBMP-2, WISP-1/CCN4の発現を10%HAグループより促進することが示唆された。

本研究では、HAフィラーは歯肉組織中で経時的に吸収されることにより、歯肉組織には悪影響は与えないことが明らかとなった。さらに歯肉再生関連因子の発現を促進することにより、歯肉組織の修復にポジティブな働きをしていることを*in vivo*および*in vitro*の検討に基づき明らかにした。すなわち本研究は、HAフィラーが歯肉組織内での吸収挙動および歯肉線維芽細胞、歯肉再生関連因子の発現に及ぼす影響を解明するにより、歯間乳頭再建材料としてのHAフィラーの将来性を示したものであり、歯科生体材料学および審美歯科領域に学術的貢献をし得たものである。

よって 博士（歯学）の学位論文として相応しいと判断する。